

PURIFIED IGM

Publication number: JP2000493 (A)

Publication date: 1990-01-05

Inventor(s): JIYOOJI DABU; GOOTAMU MITORA

Applicant(s): MILES INC

Classification:

- international: C12N5/10; A61K39/395; A61K39/40; C07K1/16; C07K16/12; C07K16/14; C12N15/02; C12P21/08; A61K38/00; C12N5/10; A61K39/395; A61K39/40; C07K1/00; C07K16/12; C07K16/14; C12N15/02; C12P21/08; A61K38/00; (IPC1-7): A61K39/395; C12N5/00; C12N5/16; C12P21/08

- European: C07K16/12A14

Application number: JP19880197281 19880809

Priority number(s): US19870083136 19870810

Also published as:

JP2730913 (B2)

EP0303088 (A2)

EP0303088 (A3)

EP0303088 (B1)

GR3006536 (T3)

[more >>](#)

Abstract not available for JP 2000493 (A)

Abstract of corresponding document: **EP 0303088 (A2)**

An essentially pure and stabilized antibody preparation comprising IgM antibodies having a purity greater than about 98% by weight and a nucleic acid content of less than about 200 pg per mg IgM. In one embodiment IgM antibodies from a monoclonal source are subjected to ion exchange and size exclusion chromatography at an alkaline pH to yield a purified IgM having a nucleic acid content of less than 10 pg/mg IgM, preferably less than about 4 pg/mg IgM. A highly purified and stabilized preparation of anti Pseudomonas aeruginosa antibodies is disclosed.

.....
Data supplied from the **esp@cenet** database — Worldwide

⑯日本国特許庁(JP)

⑮特許出願公開

⑰公開特許公報(A)

平2-493

⑯Int.Cl.⁵
C 12 P 21/08
A 61 K 39/395
C 12 N 5/16

識別記号

府内整理番号

R

6712-4B
8829-4C

8515-4B C 12 N 5/00

B

審査請求 未請求 請求項の数 4 (全7頁)

⑲発明の名称 精製された IgM

⑳特 願 昭63-197281

㉑出 願 昭63(1988)8月9日

優先権主張 ㉒1987年8月10日 ㉓米国(US) ㉔083136

㉕発明者 ジョージ・ダブ アメリカ合衆国カリフォルニア州94547 ハーキュレス・ゴールデンロッド 154

㉖発明者 ゴータム・ミトラ アメリカ合衆国カリフォルニア州94707 ケンジントン・カウパー・アベニュー 40

㉗出願人 マイルス・インコーポレーテッド アメリカ合衆国カリフォルニア州94701バークレイ・フォースアンドバーカーストリーツ・ビオーボックス 1986

㉘代理人 弁理士 小田島 平吉

明細書

1 発明の名称

精製された IgM

2 特許請求の範囲

1) 実質的に純粋な且つ安定化された IgM 抗体調製物。

2) 治療用として適当な IgM 抗体を含む実質的に純粋な且つ安定化されたモノクローナル抗体調製物。

3) 治療用として適当であり、実質的に純粋な且つ安定化されたモノクローナル抗体調製剤であって、該調製剤が IgM 型の抗Pseudomonas aeruginosa 抗体から成る調製物。

4) 約 98 重量 % 以上の純度を有し、核酸の含量が IgM 1 mg 当たり約 200 pg 以下である IgM 型のモノクローナル抗体から成る高度に純粋なモノクローナル抗体調製物。

3 発明の詳細な説明

本発明の技術的背景

本発明の関連分野: 本発明は一般的に高度に精製された免疫グロブリンに関し、特に事実上核酸を含まない IgM クラスの高度に精製された免疫グロブリンに関するもの。

従来技術: IgM は人間に見出だされる約 7 % の免疫グロブリンを含む周知の IgS 免疫グロブリンである。 IgM 抗体は少なくとも 5 の抗体価を有するといわれており、免疫応答反応において最も早期に発生する抗体である。 IgM 抗体は特に細菌の感染を防除する点で極めて有効な傾向があるが、生体内では約 5 日間という比較的短い半減期を有している。更に IgM 抗体は不安定であり、安定化することが比較的困難で、純粋の形態においては特に困難である。

血漿から誘導された IgM、及びごく最近はモノクローナル IgM について、各種の精製方式が示唆されている。血漿から誘導された IgM の場合は、コーン(Cohn)分画Ⅲとして知られるものから比較的濃厚な IgM を得るために、アルコール分画技術を使用できることが 1940 年代から

特開平2-493(2)

知られていた。例えばW. ステファン(Stephan)による静脈(IV)投与に適した濃縮IgMを製造するためのベータ-プロブリオラクトン(β -propiolactone)の使用に関する米国特許第4,318,902号(及び引用文献)を参照されたい。更にミウラ(Miura)等のヨーロッパ特許出願EP第0,038,667号(IgMのアシル化)を参照されたい。又一般にアルカリ性pHでイオン交換樹脂を用いる免疫血清グロブリンの精製に関するズッフィー(Zuffi)の米国特許第4,272,521号を参照されたい。他のIgM精製又は調製技術はU. サグ(Sugg)等、Vox Sang. 36: 25-28(1979); M. シタインバッハ(Steinbach)等、Preparative Biochemistry, 3(4), 363-373(1973)及びA. ウィックマン(Wichman)等、Biochem. Biophys. Acta, 490:363-69(1977)により開示されている。IgM型の特殊なモノクローナル抗体を製造する技術はワンズ(Wands)等による米国特許第4,271,145号に示されている。高アフィニティIgM抗体は現在体細胞ハイブリッド(somatic cell hybrid)を用いて(例えばH. コプロウスキー(Koprowski)等の米国特許第4,172,124号参照)、EBV形質転換細胞を用いて[M. ロストローム(Lostrom)の米国特許第4,446,465号参照]、二種の方法の組み合わせにより又は細胞の電気融合により日常的に製造されている。IgG及びIgMクラスの両者のモノクローナルは製造され、精製され且つ特性分析が行なわれている。かようなIgM製剤はD. ナウ(Nau)、Biocromatography, 1, No. 1, 83-84頁(組織培養からの純度95%のIgM); M. フィシナー(Fishner)、米国特許第4,604,235号(マウスの腹水[asciter fluid]からの純度90%のIgMであり、事実上純粋な抗体と特性決定された); J. R. ワンズ(Wands)等、国際特許出願公開82/01072(診断用の高アフィニティIgMモノクローナル抗体であり、上記に引用された); S. バーチール(Burchiel)等、J. Immuno. Meth. 69, 33頁1984年(マウ

ニティIgM抗体を用いる特殊な免疫測定法は、ワンズ等の名前で発表された国際特許出願公開82/01072に記載されている。又J. A. サンプソン(Sampson)等、J. Immuno. Meth. 69, 9-15頁(1984)も参照されたい。各種の技術的理由から、血漿から由来したIgMは精製することが比較的困難であり、今まで知られている最高の純度はIgMとして約90重量%である。又こうした血漿から由来したIgMの核酸含量は、IgMがヒトの血漿を原料として誘導されているので、一般に重大な関心事ではなかった。

血漿から由来したIgMの一般的な核酸含量は1mg当たり約1ngないし10 μ gの範囲にあると言われている。

ケーラー(Köhler)及びミルスタイン(Milstein)による“Continuous Culture of Fused Cells Secreting Antibody of Predetermined Specificity”, Nature, 256:495-497(1975)の発行以来、モノクローナル抗体の製造は周知となった。所与の特異性のモ

ノクローナル抗体は現在体細胞ハイブリッド(somatic cell hybrid)を用いて(例えばH. コプロウスキー(Koprowski)等の米国特許第4,172,124号参照)、EBV形質転換細胞を用いて[M. ロストローム(Lostrom)の米国特許第4,446,465号参照]、二種の方法の組み合わせにより又は細胞の電気融合により日常的に製造されている。IgG及びIgMクラスの両者のモノクローナルは製造され、精製され且つ特性分析が行なわれている。かのようなIgM製剤はD. ナウ(Nau)、Biocromatography, 1, No. 1, 83-84頁(組織培養からの純度95%のIgM); M. フィシナー(Fishner)、米国特許第4,604,235号(マウスの腹水[asciter fluid]からの純度90%のIgMであり、事実上純粋な抗体と特性決定された); J. R. ワンズ(Wands)等、国際特許出願公開82/01072(診断用の高アフィニティIgMモノクローナル抗体であり、上記に引用された); S. バーチール(Burchiel)等、J. Immuno. Meth. 69, 33頁1984年(マウ

P. aeruginosa)に対するモノクローナルIgMの製造は開示されており、IgMはヒトのリンバ芽球様(lymphoblastoid)組織培養から誘導され、及びDEAEセファセル(sephacel)がIgMの最初の精製に使用された。0.005ないし0.5 μ g/mlの濃度を持ったIgMの治療上許容できる等張溶液は既知であるが、IgM製品の相対的純度又はその処方にについては何もデータが与えられていない。

血漿から由来したIgMの核酸含量は重要な関

特開平2-493(3)

心を招いていないが、モノクローナル IgM の核酸含量は、異質(ヒト以外)の核酸が非経口的に投与された製品を通じて人間に導入される危険の可能性があるために、極めて重要である。従って精製され且つ濃縮された IgM 製品を得ることが望ましいことに加えて、全く又は殆んど核酸を含まないような製品を得ることも要望されるところである。本発明者等は加工工程及び貯蔵条件を注意深く管理することにより、かのような製品が製造可能で、且つ安定化することができることを新しく見出だした。本発明者等の高度に精製された IgM の詳細は下記に記載される。

本発明の要約

本発明の開示は 98 重量% 以上の純度及び IgM 1 g 当たり約 200 pg 以下の核酸含量を有する IgM 抗体から成る、実質的に純粹で安定化された IgM 抗体生成物に関する。好適な具体化においては、IgM の純度は 98 重量% よりも大で、核酸含量 IgM 1 g 当たり約 4 pg 程度か又はそれより低く、且つ製剤は安定剤として NaCl 1

安定化された IgM” という表現は、約 98 重量% 以上の純度を有する IgM 抗体及び核酸含量が IgM 1 mg 当たり約 200 pg 以下である IgM 製剤を称する。“ 安定化された IgM 製剤 ” とは、少なくとも 6 ヶ月の期間にわたってサイズ・エクスクルージョン・クロマトグラフィーによって測定された分子量分布における変化が 10 % 以内(+ 又は -)(例えばファルマシア [Pharmacia] FPL C-スペロース® 6 のピーク面積) である製剤を意味する。IgM 抗体は生理学的に活性(免疫結合体を形成する能力がある)であり、NaCl、アルブミン又はアミノ酸のような適当な安定化剤の存在において、約 4 ないし 10 の範囲の pH に保つことにより安定化される。核酸含量の低いことは、核酸源の如何によらず、IgM 製剤の近似的な均一性を得るために望ましいが、異質源(動物起源又は人間の細胞であっても、例えば E B V 形質転換によって遺伝的に変質したもの)からの核酸が存在しないか又は殆ど存在しないことを保証することが重要であるので、培養液(例えばハイブ

及びアルブミンの存在において、約 4 ないし 10 の範囲の pH、好適には pH 約 8 に保つことによって安定化される。上記の特性を有する代表的な製剤は ブソイドモナス・アエルギノーザ (P. aeruginosa) 細菌の表面に見出だされる血清型決定因子に特異的な一種又は多種の IgM 抗体を含んでいる。製剤は一種又は多種のクローンから得られる IgM 抗体を含んでおり、P. aeruginosa の感染を治療するのに有用であることが見出されることを意図している。製剤はモノクローナル抗体源を培養し、モノクローナル抗体を収穫し、次いで収穫された抗体をイオン交換樹脂及びサイズ・エクスクルージョン・(size exclusion)クロマトグラフィーが含まれる注意深く調節された一連の処理工程により処理することにより得ることができる。

特定な態様

本開示の非常に重要な態様は、本発明の IgM 製剤の全体的な純度、安定性及び核酸の低含量である。本文で用いられるような “ 実質的に純粹で ”

リドーマ又は形質転換細胞の)から得られる如何なる IgM 生成物においても本質的に望ましいことである。

下記の実施例は或種の血清型の ブソイドモナス・アエルギノーザ 細菌に特異的な事実上純粹な且つ安定化された IgM を示している。本発明者等が精製し安定化することができた IgM 抗体は下記の A. T. C. C. クローンから生成したものである: 系統 6 F 1 1 、 フィッシャー・タイプ (Fisher Type) 2 、 A. T. C. C. アクセション (Accession) No. CRL 8562 、 ライン 5 G 2 、 フィッシャー・タイプ 6 、 A. T. C. C. アクセション No. CRL 8797 、 及び ライン 13 C 1 、 フィッシャー・タイプ 5 、 A. T. C. C. アクセション No. CRL 8796 。

材料及び方法

下記の実施例はクラス M 及び各種のフィッシャー・タイプのモノクローナル抗体が組織培養液から高度に精製されることを例示する。

実施例 1

特開平2-493 (4)

ライン 6 F 1 1 、 A . T . C . C . アクセション No. C R L 8 5 6 2 の細胞はフィッシャー・タイプ 2 の ブソイドモナス・アエルギノーザ に特異的なクラス M のモノクローナル抗体を生産するヒトのリンパ芽球細胞である。このラインはヒトの血清アルブミン、インシュリン及びトランスフェリンを追加したハナ・バイオロジクス(Hana Biologics)複合培養基の混合物中で生育させた。培養槽は搅拌式タンクであった。

上記の培養液から得られた 50 mg / l IgM の容積 40 l を、 0.2 μm フィルター(ミクロゲン [Microgen])を通じて沪過した。沪液は 10,000 の分子量を遮断するタングエンシヤル・フロー・メンブラン (tangential flow membrane ; ミリポア [Millipore]) を用いて 1 l に濃縮した。濃縮物を 5 °C に冷却し、 pH 7.4 に調節した。 100 g の PEG を添加し、 1 時間攪拌した。溶液を 10,000 × g で 30 分間遠心分離した。上澄液を捨て、沈殿を -35 °C で凍結した。

沈殿を 1 l の緩衝液(0.05 M トリス、 0.

0.05 M トリス、 0.01 M グリシン、 pH 8.0) と透析沪過(diafilter)した。溶液を滅菌沪過した。一部を凍結させ、 80 時間サイクル(-40 °C で 10 時間、 -20 °C で 20 時間、 -0 °C で 20 時間、 20 °C で 10 時間及び 37 °C で 20 時間) で凍結乾燥した。

累積収率は 30 - 35 % である。液は 5 °C で 1 年以上沈殿を起こすことなく透明のままであった。凍結乾燥した生成物は白色で、水で 3 分間以内に再構成される。 SDS - ポリアクリラミドゲル電気泳動(PAGE)法及びファルマシア FPLC - セファロース 6 によれば、純度は 98 % よりも大である。ハイブリダイゼーション・プローブ試験法による核酸含量は 6.7 ピコグラム / mg IgM 以下である。

実施例 2

ライン 5 G 2 、 A . T . C . C . アクセション No. C R L 8 7 9 7 の細胞はフィッシャー・タイプ 6 の ブソイドモナス・アエルギノーザ に特異的なクラス M のモノクローナル抗体を生産するヒ

0.8 M NaCl、 pH 8.0) 中に再分散させた。 pH を 4.5 に低下させた。溶液を 10,000 × g で 30 分間遠心分離し、沈殿を廃棄した。上澄液の pH を再度 8.0 に調節した。溶液を緩衝液(0.05 M トリス、 0.08 M NaCl、 2% Tween [Tween]、 pH 8.0) と平衡させた 1 l の DEAE - セファロース ファースト・フロー(Fast - Flow)(ファルマシア)の陰イオン交換カラムに吸着させた。 IgM を緩衝液(0.05 M トリス、 1.0 M NaCl、 pH 8.0) で直線的勾配により溶離させた。溶離液を 100,000 分子量膜上で濃縮し 0.5 l とした。濃縮物を緩衝液(1.0 M NaCl、 0.05 M トリス、 0.01 M グリシン、 pH 8.0) と平衡させたセファロース CL - 6 B のサイズ・エクスクルージョン・カラム(ファルマシア)上で分別した。 IgM 溶離液は 6 l であった。

0.5 g のヒト血清アルブミンを添加し、 10,000 分子量膜を用いて液量を 0.1 l に濃縮した。溶液を 0.5 l の緩衝液(0.15 M NaCl、 0.01 M グリシン、 pH 8.0) と平衡させたセファロース CL - 6 B のサイズ・エクスクルージョン・カラム(ファルマシア)上で分別した。 IgM 溶離液は 6 l であった。

トのリンパ芽球細胞である。このラインは実施例 1 のラインと事実上同一の技法により成長させた。

最初の 0.2 μm 沪液を pH 4.0 に調節し、 2 時間保持する以外は、培養液を実施例 1 のラインと同様な技法により最終生成物まで精製した。上記操作後、溶液の pH を中性に再調節し、各工程を更に継続した(例えば濃縮等)。しかし、培養液の容積は 80 mg / l で 10 l であり、他の容積もこれに比例して定めた。最終配合物の緩衝液は 0.15 M NaCl、 0.01 M グリシン、 pH 8.0 であった。

累積収率は 30 - 35 % である。液は 5 °C で 6 ヶ月以上沈殿を起こすことなく透明のままであった。凍結乾燥した生成物は白色で、水で 3 分間以内に再構成される。 SDS - ポリアクリラミドゲル電気泳動(PAGE)法及びファルマシア FPLC - セファロース 6 によれば、純度は 98 % よりも大である。ハイブリダイゼーション・プローブ試験法による核酸含量は 8.5 ピコグラム / mg IgM 以下である。

特開平2-193(5)

実施例 3

ライン 13C1、A.T.C.C. No. 87
96 の細胞はフィッシャー・タイプ 5 のブソイドモナス・アエルギノーザに特異的なクラス M のモノクローナル抗体を生産するヒトのリンパ芽球細胞である。このラインは実施例 1 のラインと事实上同一の技法により成長させた。

培養液を実施例 1 のラインと事实上同一の技法により最終生成物まで精製した。しかし、培養液の容積は 100 mg / ℥ で 10 ℥ であり、他の容積もこれに比例して定めた。最終配合物の緩衝液は 0.15M NaCl、0.01M グリシン、pH 8.0 であった。

累積収率は 30 - 35 % である。液は 5 °C で 6 ヶ月以上沈殿を起こすことなく透明のままであった。凍結乾燥した生成物は白色で、水で 3 分間以内に再構成される。SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動法及びファルマシア FPLC-セファロース 6 によれば、純度は 98 % よりも大である。ハイブリダイゼーション・プローブ試験法による

1. 実質的に純粹な且つ安定化された IgM 抗体製剤。
2. 約 98 重量 % 以上の純度を有するヒト IgM 抗体から成る上記 1 に記載の製剤。
3. 核酸の量が IgM 1 mg 当たり約 200 pg 以下である上記 2 に記載の製剤。
4. 核酸の量が IgM 1 mg 当たり約 10 pg 以下である上記 3 に記載の製剤。
5. 核酸の量が IgM 1 mg 当たり約 4 pg 以下である上記 3 に記載の製剤。
6. 治療用に適した上記 1 に記載の製剤。
7. 適当な賦形剤を含む上記 6 に記載の製剤。
8. 安定化量の塩及び蛋白質を含む上記 7 に記載の製剤。
9. 約 4 ないし約 10 の範囲の pH を有する上記 8 に記載の製剤。
10. 約 7 ないし約 9 の範囲の pH を有する上記 9 に記載の製剤。
11. 治療用として適当な IgM 抗体を含む実質的に純粹な且つ安定化されたモノクローナル抗

核酸含量は 8.5 ピコグラム / mg IgM 以下である。

本発明者等の一般的な方法は添付図面中に略図的に示してある。

最終生成物

高純度の生成物が、好適には NaCl、アルブミン、アミノ酸又は炭水化物の存在において、0.01 mg / mL ないし 50 mg / mL の範囲の濃度及び 4 ないし 10 の範囲の pH に調節することにより安定化できることが見出だされた。最終生成物は液状(上記のような)或いは凍結乾燥され、感染性剤を不活性化するための既知の方法で処理されたものであってもよい。

上記の開示が与えられた以上、この分野の熟練者には種々な変化法があり得ることが教示されよう。従って開示された本発明の範囲は特許請求の範囲によってのみ制限されることを意図するものである。

本発明の主なる特徴及び実施態様は以下の通りである。

体製剤。

12. 約 98 重量 % 以上の純度の抗体を有するヒト IgM 抗体から成る上記 1 に記載の製剤。

13. 核酸の量が IgM 抗体 1 mg 当たり約 200 pg 以下である上記 12 に記載の製剤。

14. 核酸の量が IgM 抗体 1 mg 当たり約 10 pg 以下である上記 13 に記載の製剤。

15. 核酸の量が IgM 抗体 1 mg 当たり約 4 pg 以下である上記 13 に記載の製剤。

16. 適当な賦形剤を含む上記 15 に記載の製剤。

17. 安定化量のヒト血清アルブミンを含む上記 16 に記載の製剤。

18. 約 4 ないし約 10 の範囲の pH を有する水溶液の形態にある上記 17 に記載の製剤。

19. 約 7 ないし約 9 の範囲の pH を有する上記 18 に記載の製剤。

20. 抗体が病原性のグラム陰性微生物に見出だされる抗原に特異的である上記 19 に記載の製剤。

特開平2-493(6)

21. 治療用として適当であり、実質的に純粹な且つ安定化されたモノクローナル抗体製剤であって、該製剤が IgM 型の抗ブソイドモナス・エルギノーザ抗体から成ること。

22. 核酸の含量が IgM 1 mg 当たり約 200 pg 以下である上記 21 に記載の製剤。

23. 核酸の含量が IgM 1 mg 当たり約 100 pg 以下である上記 22 に記載の製剤。

24. 核酸の含量が IgM 抗体 1 mg 当たり約 4 pg 以下である上記 23 に記載の製剤。

25. 少なくとも二種のフィッシャー血清型抗原に特異的である抗体から成る上記 24 に記載の製剤。

26. フィッシャー血清型抗原に特異的である抗体から成る上記 25 に記載の製剤。

27. 安定化量のヒト血清アルブミンを含む上記 26 に記載の製剤。

28. 約 4 ないし約 10 の範囲の pH を有する水溶液の形態にある上記 27 に記載の製剤。

29. 約 7 ないし約 9 の範囲の pH を有する上記 26 に記載の製剤。

30. フィッシャー血清型抗原に特異的である抗体がある上記 37 に記載の製剤。

31. 安定化量のヒト血清アルブミンを含む上記 38 に記載の製剤。

32. 安定化量の炭水化物を含む上記 38 に記載の製剤。

33. 約 4 ないし約 10 の範囲の pH を有する水溶液の形態にある上記 38 に記載の製剤。

34. 約 7 ないし約 9 の範囲の pH を有する上記 41 に記載の製剤。

35. 炭水化物がデキストロース、スクロース及びマルトースから選択される上記 38 に記載の製剤。

36. 約 4 ないし約 10 の範囲の pH、約 0 ないし 5 重量 % のヒト血清アルブミン、約 0 ないし 10 % のマルトース、約 0.0 ないし 0.5 M の NaCl 及び約 0 ないし 0.01 M のグリシンを有する水溶液の形態にある上記 38 に記載の製剤。

37. 下記の処方: 5 mg / ml の IgM ; 5 mg

記 28 に記載の製剤。

30. IgM を安定化するのに充分な量の炭水化物を含む上記 28 に記載の製剤。

31. 約 9.8 重量 % 以上の純度を有し、核酸の含量が IgM 1 mg 当たり約 200 pg 以下である IgM 型のモノクローナル抗体から成る高純度なモノクローナル抗体製剤。

32. 核酸の含量が IgM 1 mg 当たり約 100 pg 以下である上記 31 に記載の製剤。

33. 核酸の含量が IgM 抗体 1 mg 当たり約 4 pg 以下である上記 32 に記載の製剤。

34. 約 9.9 重量 % よりも大きい IgM 純度を有する上記 32 に記載の製剤。

35. 抗体が病原性のグラム陰性微生物の抗原に特異的である上記 34 に記載の製剤。

36. 抗体が IgM 型の抗ブソイドモナス・エルギノーザ細菌の抗原に特異的である上記 35 に記載の製剤。

37. 少なくとも二種のフィッシャー血清型抗原に特異的である抗体がある上記 36 に記載の製

/ ml のアルブミン; 0.15 M の NaCl; 0.01 M のグリシン; を有し、且つ pH 約 8.0 の水溶液の形態にある上記 44 に記載の製剤。

4 図面の簡単な説明

図面は本開示の一具体化例を製造するために使用される一般的加工工程を示すフローチャートである。全体の工程の内の個々の段階から得られる段階的な純度の増加及び核酸含量の減少も又示されている。

特許出願人 マイルス・インコーポレーテッド

代理 人 弁理士 小田島 平吉



